Lane Medical Library

Aus dem Tierphysiologischen Institut der Universität München
Vorstand: Professor Dr. J. Paechtner

Ein Beitrag zur Kenntnis des Blutfarbstoffs unserer pflanzenfressenden Haussäuger

(Untersuchungen am Blut von Pferden, Rindern, Schafen und Ziegen)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Julius Schneider
Tierarzt aus Ludwigshafen/Rh.

München 1936

Druck von Franz X. Seitz in München

Aus dem Tierphysiologischen Institut der Universität München
Vorstand: Professor Dr. J. Paechtner

Ein Beitrag zur Kenntnis des Blutfarbstoffs unserer pflanzenfressenden Haussäuger

(Untersuchungen am Blut von Pferden, Rindern, Schafen und Ziegen)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Julius Schneider
Tierarzt aus Ludwigshafen/Rh.

München 1936

Druck von Franz X. Seitz in München

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Referent: Prof. Dr. J. Paechtner.

Meiner lieben Mutter in Dankbarkeit!

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung 5
1. Geschichtliches über Darstellung von Hämoglobinkristallen . . 6
2. Eigenschaften der Hämoglobine verschiedener Tierarten . . . 6
B. Darstellung des kristallisierten Hämoglobins und Bestimmung seines Eisengehaltes 8
1. Bisherige Untersuchungen 8
2. Eigene Versuche 9
a) Hämoglobindarstellung nach Hoppe-Seyler (Kälteverfahren) . 9
b) Beobachtungen an Ziegenhämoglobinkristallen 11
c) Methodik der Eisenbestimmung 12
d) Versuchsergebnisse 15
e) Anhang: Elektrodialytisch dargestellte Hämoglobinkristalle . 17
C. Der Fe-Gehalt im Blut und Blutplasma und der Hämoglobingehalt des Blutes 19
1. Gesamteisengehalt und Hämoglobingehalt des Blutes 19
2. Eisengehalt des Blutplasmas 19
D. Zusammenfassung 21
E. Literaturangabe 22
F. Tabellen, Photos von Hämoglobinkristallen und Abbildungen . . 24

A. Einleitung

Im Blute der höheren Wirbeltiere ist der rote Blutfarbstoff der am meisten in die Augen fallende und zugleich funktionell wichtigste Bestandteil. Er befähigt das Blut zur Aufnahme des Luftsauerstoffes in den Lungen und zum Transport desselben an alle lebenden, sauerstoffverbrauchenden Zellen des Organismus. Die Eigenschaften des Hämoglobins, insbesondere sein Sauerstoffbindungs- und -wiederspaltungsvermögen unter den wechselnden Bedingungen des Milieus (Druck, Temperatur, Wasserstoffionenkonzentration), sind seiner respiratorischen Aufgabe so weitgehend angepaßt, daß unter physiologischen Bedingungen stets eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Organe des Körpers gewährleistet wird.

Es ist schon frühzeitig gelungen, das Hämoglobin aus dem Blute des Menschen wie auch verschiedener Tiere in Kristallform abzutrennen und seinen Aufbau zu untersuchen.

Bevor ich auf die heute angewandten Darstellungsverfahren eingehe, sei mir ein Rückblick in die Geschichte der Hämoglobindarstellung gestattet. Die ältesten Angaben über Blutkristalle finden sich in den vierziger Jahren des vorigen Jahrhunderts. Hünefeld (1) sah im eingetrockneten Blute (Mensch?), B. Reichert (2) auf der Oberfläche des Mutterkuchens eines fast ausgetragenen Meerschweinchens, und Kölliker (3) in den Blutkörperchen von Mensch, Hund und Flußbarsch rote Kristalle im Mikroskop. Keiner dieser Forscher war sich aber offenbar klar darüber, daß er Kristalle des roten Blutfarbstoffes vor sich hatte. Im Jahre 1850 wurden zuerst menschliche Blutkristalle von Budge in Blutegeln beobachtet (4). Der erste, welcher unabhängig von allen früheren Forschern die Blutkristalle eigentlich entdeckte, ist Otto Funke (5), der aus dem Milzvenenblute des Pferdes Hämoglobinkristalle darstellte. „Setzt man zu einem auf dem Objektblättchen ausgebreiteten Tropfen Blut, welcher infolge der freiwilligen Verdunstung bereits angefangen hat, etwas einzutrocknen, Wasser und beobachtet die Ränder der Blutkörperchenhaufen, so sieht man dieselben sich plötzlich verändern; während einige der Blutkörperchen verschwinden, erhalten die anderen dicke, dunkle Konturen, werden eckig und länglich und dehnen sich zu kleinen, scharf markierten Stäbchen aus. Es bilden sich auf diese Weise eine enorme Anzahl von Kristallembryonen, welche zu klein sind, um ihre Form genau zu bestimmen; diese dehnen sich mehr und mehr rasch in die Länge aus, während ihr Querdurchmesser unverändert bleibt oder nur wenig zunimmt, bilden prismatische Bällchen, welche zum Teil wirbelförmig beisammenliegen, und endlich

ist das ganze Sehfeld mit einem dichten Netzwerk von nach allen Richtungen sich durchkreuzenden nadelförmigen Kristallen bedeckt."

1852 stellte Funke (zit. nach Preyer [6]) zuerst menschliche Blutkristalle direkt aus Venenblut durch bloßen Wasserzusatz nach Beginn der Eintrocknung eines Bluttropfens dar. Er hob hervor, daß die kristallisierende Substanz der Hauptinhalt der Blutkörperchen sei. Er bezeichnete sie als eine Verbindung von „Globulin" mit „Hämatin" und kam damit der heutigen Auffassung vom Aufbau des Blutfarbstoffes schon sehr nahe. Die heute übliche Bezeichnung „Hämoglobin" stammt von Hoppe-Seyler (6).

Nach der heutigen Auffassung ist der rote Blutfarbstoff aller Tierklassen und des Menschen im Prinzip gleichgebaut. Er gehört zur Gruppe der sogenannten Chromoproteide, die sich aus der Vereinigung eines Eiweißkörpers mit einem Farbstoff bilden. Die Eiweißkomponente im Hämoglobin ist das Globin, der mit diesem verbundene eigentliche Farbstoff ist das ein Atom Eisen im Molekül enthaltende Hämin. Das Hämoglobin läßt sich verhältnismäßig leicht in Hämin und Globin spalten, die dann einzeln erforscht werden können. Die chemische Untersuchung der Farbkomponente, des Hämins, ist heute so gut wie abgeschlossen, nachdem H. Fischer sogar seine künstliche Synthese gelungen ist (7). Gleichzeitig steht heute fest, daß die Häminkomponente im Blutfarbstoff aller höheren Tiere identisch ist.

Die Erforschung des Globins, das rein gewichtsmäßig mit rund 96% den Hauptanteil am Hämoglobin ausmacht, ist jedoch bei weitem nicht so fortgeschritten wie die des Hämins.

Schon bald nach der Entdeckung der Blutkristalle hat sich die Frage ergeben, ob die Hämoglobine aller Tierarten identisch oder ob sie artspezifisch verschieden sind. Da man heute weiß, daß die Farbkomponente selbst überall dieselbe ist, bezieht sich das Problem jetzt nur noch auf die Globinkomponente. Die Frage ist aber auch heute noch keineswegs vollkommen geklärt. Für das Vorhandensein verschiedener Hämoglobinarten gibt es eine ganze Anzahl von Gründen. Schon das Auftreten verschiedener Kristallformen legte die Vermutung verschiedenartigen Baues der Hämoglobine bei einzelnen Tierarten nahe. Die eingehendste Untersuchung hierüber haben Reichert und Brown (8) ausgeführt, die 600 verschiedene Aufnahmen von Hämoglobinkristallen der verschiedensten Tiere, von den Fischen durch die ganze Reihe der Wirbeltiere bis zu den Primaten, veröffentlicht und kristallographisch ausgewertet haben. Sie beobachteten auch im Blut ein und desselben Tieres oftmals verschiedene Kristallformen und unterschieden so α-, β- und γ-Hämoglobine. Im allgemeinen fanden sie, daß die Kristalle der Tierarten einer Gattung demselben

kristallographischen System und meist auch derselben kristallographischen Gruppe angehören, d. h. die Hb-Kristalle jeder Gattung sind isomorph. Der Habitus der Kristalle ist aber so von den Kristallisationsbedingungen abhängig, daß an ihm die Herkunft des Hämoglobins nicht sicher erkannt werden kann. Dimorphismus stellten auch Uhlik (9) sowie Möllenhoff (10) an Pferdeoxyhämoglobin-Kristallen fest. Weiter fanden sie, daß eine Form unter Umständen in die andere übergehen kann. Es ist also schwer, aus der Form des kristallisierten Hämoglobins auf verschiedene Zusammensetzung zu schließen. Deutliche Unterschiede fanden Heidelberger und Landsteiner (11) im serologischen Verhalten der Hämoglobine verschiedener Tiere, Unterschiede in der Resistenz gegen NaOH wies von Krüger (12) nach, spezifische Unterschiede im S-Gehalt fand Valer (13). Neuerdings wies Schenck (14) durch Mengenbestimmung einiger Aminosäuren spezifische Unterschiede im Globin des Blutfarbstoffs unserer Haustiere nach. Endlich sind schon lange kleine, aber offenbar spezifische, Abweichungen in der Lage der Absorptionsmaxima der Spektren verschiedener Blutarten bekannt (Barcroft 15). Spektroskopische Unterschiede und solche der Kristallform fand Haurowitz (16) neuerdings im Hämoglobin des Säuglings und des erwachsenen Menschen. Somit kann man als feststehend betrachten, daß der Hämoglobinkomplex in seiner Zusammensetzung, oder wenigstens in seinem Verhalten, nicht immer gleich ist.

Andererseits gibt es eine Anzahl von Tatsachen, die für eine weitgehende Aehnlichkeit aller Hämoglobine untereinander sprechen. Die wichtigste ist die Sauerstoffkapazität, d. h. diejenige Menge Sauerstoff in ccm, die 100 g Hämoglobin maximal binden. Nach den Untersuchungen von Barcroft und Peters (15) ist diese unabhängig von der Tierart, während Bohr (15) früher starke Unterschiede zum Beispiel bei Pferde- und Hunde-Hämoglobin gefunden hatte. Weiter gilt als Beweis für die Aehnlichkeit aller Hämoglobine ihr anscheinend gleicher Eisengehalt, aus dem man schließen kann, daß das Mengenverhältnis von Farbkomponente (Fe) zu Globinkomponente in allen Hämoglobinen gleich ist. Auf die Ergebnisse der bisher vorliegenden Eisenbestimmungen werde ich weiter unten genauer eingehen.

Die offenbar bestehenden Verschiedenheiten der Hämoglobine verschiedener Tiere machen sich praktisch schon bei der kolorimetrischen Hämoglobinbestimmung, wie sie in der Veterinärmedizin für klinisch-diagnostische Zwecke gehandhabt wird, bereits bemerkbar. Insbesondere zeigt das Rinderoxyhämoglobin einen so abweichenden Farbton, daß seine kolorimetrische Bestimmung kaum exakt durchführbar ist, wenn man es z. B. im Bürkerschen Kolorimeter mit Men-

schenoxyhämoglobin vergleichen muß (17). Es erscheint deshalb notwendig für kolorimetrische Bestimmungen, das Kolorimeter für das Blut jeder einzelnen untersuchten Tierart durch Absolutbestimmungen zu eichen. Die gebräuchlichsten Absolutmethoden zur Absolutbestimmung des Hämoglobins sind die Bestimmung des Eisengehaltes einer Hämoglobinlösung oder die Bestimmung ihrer Sauerstoffkapazität. Solche Bestimmungen sind im hiesigen Tierphysiologischen Institut auf Anregung von Herrn Professor J. Paechtner ausgeführt worden. Mir wurde dabei die Bestimmung des Eisengehaltes übertragen. Die Ermittlung des Hämoglobingehaltes aus dem Eisengehalt setzt voraus, daß der Eisengehalt des Hämoglobins konstant, und wenn es sich um verschiedene Hämoglobine handelt, auch in diesen Hämoglobinen gleich ist. Ich mußte mich also zuerst davon überzeugen, ob diese Voraussetzung für das Blut der uns hauptsächlich interessierenden pflanzenfressenden Haussäuger zutrifft. Erst dann konnte ich als zweiten Teil meiner Untersuchungen die Hämoglobinbestimmungen in Blut und Blutlösungen vornehmen.

B. Der Fe-Gehalt des Hämoglobins

1. Bisherige Untersuchungen.

Wie oben erwähnt, sind Eisenbestimmungen im Hämoglobin schon oft ausgeführt worden und haben zu der Ansicht geführt, daß der Eisengehalt aller Hämoglobine gleich ist. Bei der Durchsicht der diesbezüglichen Literatur, die ich so vollständig als irgend möglich gesammelt und in Tabelle I tabellarisch zusammengestellt habe, mußte ich feststellen, daß von den Hämoglobinen von Schaf und Ziege Eisenbestimmungen offenbar noch nicht ausgeführt worden sind. Kristalle von Schafhämoglobin bzw. Oxyhämoglobin sind, soweit ich feststellen konnte, bisher nur zweimal, und zwar nur in mikroskopischen Präparaten beobachtet worden (6 und 8). Ziegenhämoglobin konnte ich überhaupt nirgends beschrieben finden*).

Betrachtet man die in Tabelle I nach Tierart jeweils chronologisch geordneten, bisher gefundenen Eisenwerte, so fällt zunächst auf, daß die Zahlen im Laufe der Zeit im allgemeinen immer niedriger geworden sind. Die älteren Bestimmungen liegen knapp unter 0,5%, die heutigen etwa bei 0,33% Fe. Das ist eine Abnahme um etwa die Hälfte der heutigen Werte. Dabei ist das Darstellungsverfahren, wie ich später genauer ausführen werde, in den meisten Fällen kaum wesentlich geändert worden. Im wesentlichen dürfte deshalb

*) Inzwischen hat sich doch noch eine Arbeit, die 2 Abbildungen mikroskopischer Hämoglobinkristalle in eingetrocknetem Ziegenblut enthält (8 a), gefunden.

die Ursache der scheinbaren Abnahme des Eisengehaltes in der Unzulänglichkeit der älteren Methoden der Eisenbestimmung zu suchen sein. Dafür spricht, daß auch die schon 1885 von Zinoffsky (18) und 1909 von Butterfield (19) mit zuverlässigerer Fe-Bestimmungsmethodik gefundenen Gehalte von 0,335 bzw. von 0,334% Fe den Werten aus den letzten Jahren sehr nahe kommen. Ja, man kann bezweifeln, ob die moderneren Eisengehalte wirklich vertrauenswürdiger sind als die von Zinoffsky und Butterfield, denn die Schwankungsbreite der Einzelwerte ist in diesen Untersuchungsreihen, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, keineswegs geringer, sondern eher noch größer als bei den älteren Autoren. Nur wegen der größeren Anzahl der Bestimmungen sind die Mittelwerte einigermaßen richtig. Auf die Frage, ob Unterschiede im Fe-Gehalt des Hämoglobins innerhalb der einzelnen Tierart etwa nach Alter, Geschlecht und Rasse bestehen, geben diese Untersuchungen keine Auskunft.

So stellte ich mir zunächst die Aufgabe, die Hämoglobine der pflanzenfressenden Haussäuger kristallisiert darzustellen, ihren Eisengehalt möglichst zuverlässig zu ermitteln und festzustellen, inwieweit dieser auch beim einzelnen Tier Schwankungen unterworfen ist.

2. Eigene Versuche.

a) Darstellungsweise der Hämoglobine nach Hoppe-Seyler-Hüfner (20).

In der Darstellung des Hämoglobins hat man schon die verschiedensten Wege eingeschlagen, aber immer war das Endprodukt in irgendeiner Weise verändert, man hatte nicht das Hämoglobin, wie es in nativer Form in dem Organismus vorhanden war. Barcroft schreibt so: „Diejenigen, welche das Hämoglobin in seiner im Körper vorhandenen Form zu haben wünschen, betonen, daß schon das Kristallisieren an sich unphysiologisch sei, daß Kristalle in den roten Blutkörperchen nicht vorkommen, und daß die Bildung von Kristallen nicht nur eine Konzentration, sondern auch eine tiefer greifende Veränderung hervorrufe, die wahrscheinlich irreversibel seien, kurz also, daß kristallisiertes und wieder gelöstes Hämoglobin nicht dasselbe ist wie das ursprüngliche Material. Löst man solch dargestelltes Hämoglobin und will die O_2-Kapazität darin bestimmen, so sei inaktives Hämoglobin vorhanden (15)." Stadie und Roß (25) haben nun ein Verfahren angegeben, nach dem man Hämoglobinkristalle in kurzer Zeit durch Elektrodialyse darstellen kann, wobei kein inaktives Hämoglobin entstehen soll. Rinderhämoglobinkristalle konnten sie auf diese Weise jedoch noch nicht bekommen. — Für den Physiologen ist Hämoglobin, das eine Funktionsänderung aufweist, natürlich ungeeignet. Für meine Bestimmung des Eisengehaltes genügte es jedoch zu-

nächst, wenn ich ein Hämoglobin habe, das in seiner Molekulargröße unverändert und rein ist. Zu diesem Zwecke scheint das bekannte Hoppe-Seyler-Hüfnersche Hämoglobin-Darstellungsverfahren am geeignetsten zu sein. Bei der Darstellung meiner Kristallpräparate habe ich dieses Verfahren einigen mir geeignet erscheinenden Abänderungen unterzogen.

Nach Hoppe-Seyler-Hüfner werden die Blutkörperchen aus defibriniertem Blut abzentrifugiert und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bei 37° mit wenig Wasser hämolysiert, und bei 0° mit $^1/_2$ Vol.-Aether versetzt. Im Laufe eines Tages trennt sich die im Scheidetrichter befindliche kühlgehaltene Lösung in eine wässerige, das Hämoglobin enthaltende, eine gelatinöse, Stromata enthaltende, und eine ätherische, Lipoide enthaltende Schicht. Die abgelassene, filtrierte und durch einen Luftstrom vom Aether befreite Hb-O_2-Lösung wird bei 0° mit $^1/_4$ bis $^1/_3$ Vol.-Alkohol versetzt und in einer Kältemischung (—20°) der Kristallisation überlassen. Nach 12—24 Stunden werden die Kristalle abzentrifugiert, mit eiskaltem Wasser gewaschen, sodann in wenig Wasser bei 37° gelöst und ohne Alkoholzusatz bei —3° umkristallisiert.

Mein definitives Vorgehen war nach verschiedenen Vorversuchen folgendes: Das defibrinierte oder Oxalatblut wurde bei 3000 Umdrehungen 10 Minuten lang zentrifugiert, bei Pferdeblut genügten schon 5 Minuten. Auch bei den sich anschließenden dreimaligen Waschungen mit physiologischer Kochsalzlösung wurde mit derselben Tourenzahl und in der gleichlangen Zeit zentrifugiert. Dadurch habe ich erreicht, daß der Blutkörperchenbrei möglichst frei von Plasma-Eiweißstoffen war. Dieser wird nun beim Pferd mit dem doppelten Volumen, beim Rind, Schaf und Ziege mit dem eineinhalbfachen Volumen destillierten Wassers, das auf 37° erwärmt ist, hämolysiert. Das Ganze bleibt dann mindestens 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, damit die Hämolyse auch vollständig eintritt. Zu dieser Hämoglobinlösung gab ich im Scheidetrichter das eineinhalbfache bis zweifache Volumen Aether, damit möglichst alle Stromata gelöst werden. Hatte ich immer nur das halbe Vol.-Aether dazugegeben, so war die Lösung trüb und schlecht, oft sogar überhaupt nicht filtrierbar. Meine Hämoglobinlösungen waren so immer klar und leicht ohne Saugpumpe zu filtrieren. Um das Verfahren möglichst zu vereinfachen, filtrierte ich die Hämoglobinlösung gleich in große Zentrifugengläser von 3 cm Durchmesser und 22 cm Höhe. Anschließend wurde 5 Minuten lang ein Sauerstoffstrom durch das Filtrat hindurchgeleitet, um reines Hb-O_2 zu erhalten, der zugleich die Lösung vom Aether befreite; ein unangenehmes, übermäßiges Schäumen trat dabei nicht auf. Die reine Oxyhämoglobinlösung kam dann sogleich in eine Kältemischung von zirka —15°, in der sie sich in einer Viertelstunde auf etwa 0° abkühlte. Dann wurde nach

Vorschrift auf 0^0 abgekühlter Alkohol langsam zugegeben. Die erforderlichen Kältemischungen setzte ich aus Eis und Viehsalz in Thermosflaschen ohne Hals an, dadurch mußte ich für jedes Präparat nur einmal eine solche anlegen (Abb. 1). Die Kältebombe kam dann noch in einen auf zirka -3^0 gehaltenen Kühlschrank. Die Kristalle wurden in einer Wasser-Zentrifuge, die ebenfalls durch eine Kältemischung auf zirka -3^0 gehalten wurde, zentrifugiert, die Mutterlauge abgegossen, mit destilliertem Wasser-Alkohol im Verhältnis 1:3 gewaschen (-3^0). Zwecks Umkristallisation wurden die Kristalle mit dem gleichen Volumen destilierten Wasser bei 37^0 wieder gelöst. Hiernach habe ich jedes Präparat zirka 12 Stunden gegen destilliertes Wasser von 5^0 dialysiert, um das Präparat von verunreinigenden Salzen noch zu befreien. Vor der zweiten Kristallisation wurde wieder ein Viertel bzw. ein Drittel des Gesamtvolumens auf 0^0 abgekühlter Alkohol hinzugesetzt. Bei zirka -3^0 war nach 2 Tagen auch die zweite Kristallisation beendet. Diese Umkristallisation kann man beliebig oft wiederholen, solange man noch genügend Kristalle dazu hat. Diejenige Fraktion, die getrocknet werden soll, wird auf einem Tonteller ausgebreitet, damit sich die Kristalle nicht mehr lösen können. Meine Ausbeute mit diesem Verfahren war zirka 30% — die vollständige Trocknung der Kristalle erfolgte bei 107^0 im Vakuum, wie ich später näher ausführe.

Ich erhielt so von Pferd, Rind, Schaf und Ziege wohlausgebildete Kristalle; ihre Größe hing von der Kristallisationsgeschwindigkeit ab. Die größten, bis zu 3 mm langen Kristalle, erhielt ich vom Ziegenhämoglobin. Da ich diese in der Literatur nicht beschrieben fand, füge ich Photographien von ihnen bei, und zwar sowohl von auf Filtrierpapier an der Luft getrockneten Exemplaren, als auch von noch in ihrer Mutterlauge befindlichen. — Wie Möllenhoff (10), Funke (5) und Uhlik (9) bei Pferde-Hämoglobinkristallen Heteromorphismus beobachteten und beschrieben, so konnte auch ich an meinen Ziegenhämoglobinkristallen dieselbe Feststellung machen. Ich erhielt aus zwei Kristallisationsansätzen derselben Blutlösung bei gleicher Behandlung im einen Ansatz lange, tafelförmige Nadeln mit trapezförmig abgeschrägten Kanten (Photo 1—6), im anderen aber große sechseckige Tafeln mit ebenfalls scharf ausgeprägten Winkeln (Photo 7 und 8). Ebenso kann ich bestätigen, daß die rhombischen Nadeln unter dem Polarisationsmikroskop Doppelbrechung zeigen (Photo 5 und 6), während die hexagonalen Tafeln sich senkrecht zu ihrer Hauptfläche als einfach brechend erwiesen. Wurden die Platten jedoch hochkant auf eine Prismenfläche gestellt, so waren sie ebenfalls doppelbrechend, d. h. sie zeigten zwischen gekreuzten Nicols bei Umdrehung um 360^0 viermal Auslöschung und viermal Aufleuchten des polarisierten Lichtes.

Methodik der Fe-Bestimmung.

Wie bereits eingangs erwähnt, sind die immerhin noch erheblichen Differenzen im Eisengehalt der Hämoglobine, die von verschiedenen Untersuchern analysiert wurden, vielleicht weniger auf wechselnde Zusammensetzung der Hämoglobinpräparate als auch auf die Verschiedenartigkeit der verwendeten Eisenbestimmungsmethoden zurückzuführen. Insbesondere geht dies aus den Arbeiten von László (21), Sciklay (22), Klein (23) hervor. Ich mußte deshalb eine Methode wählen, die ich jederzeit auf ihre Zuverlässigkeit kontrollieren konnte. Da bei den Haustieren stets genügend Blut zur Verfügung steht, war es nicht nötig, eine Mikromethode zu verwenden, bei der zufällige, oft kaum vermeidbare Verunreinigungen den Eisenwert erheblich fälschen können. Auch eine kolorimetrische Methode erschien für die erstrebte Genauigkeit der Bestimmungen nicht objektiv genug. Auf Vorschlag und unter ständiger Beratung von Herrn Dr. Gürsching arbeitete ich daher eine Methode aus, die in einer Kombination verschiedener, bisher schon üblicher Verfahren beruht. Das Verfahren gestattet die Fe-Bestimmung in 0,5 g Hb bzw. in 3 -5 ccm Blut.

Prinzip: Veraschung mit Neumannschem Säuregemisch, Fällung und Abtrennung des Eisens mit Zinkammoniumphosphat, Wiederauflösung als Sulfat, Reduktion zu Ferroeisen durch Kadmium und Titration mit n/150 $KMnO_4$.

Die Methode stellt also eine Vereinigung der bewährten, aber durch die jodometrische Titration komplizierten Fe-Bestimmungsmethode von Neumann mit der bei Abwesenheit von Chloriden ebenfalls erprobten Permanganattitration und der ausgezeichneten Reduktion durch Kadmiummetall dar.

Für die Reduktion und die Titration der eisenhaltigen Lösungen hat sich die folgende Versuchsanordnung als brauchbar und fehlerfrei erwiesen: Ein Kadmiumreduktor (Abb. 2), welchen die Fe-Lösung vor der Titration passieren muß, wird neben einer geeichten 10-cm^3-Bürette einer Saugflasche aufgesetzt (Abb. 3), um gleich die ersten reduzierten Eisenmengen titrieren zu können; auch ist es ab und zu zweckmäßig, mit geringer Saugwirkung zu arbeiten, da je nach der Dichte der Kadmiumkristalle die Lösung oft zu langsam durch den Reduktor geht, jedoch ist bei Ausführung der Bestimmung zu beachten, daß die zu reduzierende Flüssigkeit den Reduktor nur tropfenweise verläßt, da sonst eine unvollkommene Reduktion stattfinden könnte. Wie war es möglich, einen fehlerfreien Reduktor zu bekommen? Es war üblich, als Reduktionsmittel für Ferrisalze Zink zu verwenden, da aber das Zink oft eisenhaltig ist und oft Spuren von Eisen aus der Lösung an dem Zink metallisch gefällt werden können (21 und 53), wird nach dem Vorschlag von Jones (21) elektrolytisch gefälltes Kadmium

in Kristallform zur Reduktion verwendet. Vor dem Zink hat das Kadmium den Vorteil, daß es sicher kein Eisen metallisch fällt und zurückhält, ferner läßt es sich besser völlig eisenfrei gewinnen. Selbst in stark saurer Lösung tritt kaum sichtbare Wasserstoffentwicklung auf. Dagegen sind sehr hohe Konzentrationen an freier Schwefelsäure zu vermeiden, da diese sonst in kleiner Menge zu schwefliger Säure reduziert werden kann, wodurch dann ein Mehrverbrauch an Permanganat entsteht.

Zur Herstellung des feinen, silberweißen Kadmiumpulvers elektrolysierte ich eine gesättigte Lösung von Kadmiumsulfat zwischen zwei senkrecht übereinander angeordneten Elektroden, von denen die eine, die Kathode, aus Platin, die Anode aus metallischem Kadmium besteht (Abb. 1). Die Platinelektrode hatte die Größe von 3×3 cm Länge und Breite, so daß bei 0,9 Amp. Stromstärke eine Stromdichte von 10 Amp./dcm² vorhanden ist. Die so erhaltenen Kristalle wurden gewaschen, in eine Glasröhre gebracht, deren unteres Ende durch ein Glasfilter (Porenweite 1) abgeschlossen ist, zusammengedrückt und so eine Kadmiumsäule von zirka 5 cm Höhe hergestellt; über der Kadmiumsäule ist das Rohr zu einem Spülaufsatz erweitert (Abb. 3). Durch zahlreiche Versuche, in denen ich eine Fe-Lösung nach vorhergegangener Titration ein zweites- und drittesmal den Reduktor passieren ließ, überzeugte ich mich, daß sie bei geeigneter Durchlaufgeschwindigkeit durch das Kadmium jedesmal von neuem vollständig reduziert wurde und zur Titration stets dieselbe Permanganatmenge verbrauchte.

Da es mir für die Beurteilung meiner gefundenen Eisenwerte wichtig erscheint, sei die Prüfung der hier angewandten Versuchsanordnung und Veraschungsmethode sowie der Titerstellung angeführt.

Für alle Abmessungen von Flüssigkeiten benützte ich ausschließlich amtlich geeichte Pipetten, Meßkolben und Büretten. Ich stellte meine Permanganatlösung gegen n 150 Natrium-Oxalatlösung (Sörensen p. A.) ein und prüfte, ob meine Versuchsanordnung fehlerfrei und exakt arbeitet, mit einer Standardlösung, die 1 mg Eisen in 1 ccm destillierten Wasser enthielt (Tabelle II). Gleich zu Beginn der Versuche stellte sich nun heraus, daß ich eine einwandfreie Standardlösung nur aus Fe_2O_3 herstellen kann. Versuchte ich nämlich, eine solche aus Ferroammonsulfat herzustellen (Tab. II Nr. 1 und 2), so hatte ich mehr als 1 mg Fe im ccm, denn das in ihm enthaltene Kristallwasser hat eine ungenaue Einwaage zur Folge. Bei Versuchen in dieser Hinsicht fand ich bis zu 2% Eisen zu viel. Hatte ich eine Standardlösung aus Klavierdraht (Tab. II Nr. 3, 4, 5), so fand ich bis zu 2% zu wenig Eisen, bedingt durch den Kohlenstoffgehalt und andere Verunreinigungen desselben. Für Mikrobestimmungen sind solche Lösungen natürlich ungeeignet; am allerungeeignetsten für Eisenbestimmungen, wie sie in der

vorliegenden Arbeit ausgeführt wurden. Aus diesen Gründen habe ich, wie schon von Brandt (26) empfohlen, nun eine Standardlösung verwendet, die aus Fe_2O_3 (Kahlbaum, Urtitersubstanz p. a.) hergestellt war. Da sich das Fe_2O_3 aber nur in Salzsäure leicht löst, die salzsaure Lösung zur Titration mit Permanganat unbrauchbar ist, mußte ich die salzsaure Lösung in eine schwefelsaure umwandeln, und zwar so, daß ich das aus Salzsäure und der Fe_2O_3-Einwaage sich bildende Ferrichlorid mit Ammoniak als $Fe(OH)_3$ fällte und den abfiltrierten und gewaschenen Niederschlag in verdünnter Schwefelsäure quantitativ zu einem bestimmten Volumen löste. Mit dieser Standardlösung habe ich in zahlreichen Versuchen (z. B. Tab. II Nr. 6, 8, 9) meine Versuchsanordnung kontrolliert, indem ich immer genau 2 ccm der Standardlösung vorlegte und mit der gegen Natriumoxalat eingestellten n 150 Kalium-Permanganatlösung titrierte. Dabei erhielt ich Einzelabweichungen von nur maximal 0,5%. Auch die Abweichung vom Sollwert war nie größer. Zur Prüfung der Veraschungsmethode führe ich Versuch 7 (Tab. II) an, der gleichzeitig mit Versuch 6 ohne Veraschung ausgeführt wurde. Die drei Parallelproben lieferten untereinander nur um 0,2% verschiedene Werte, die Abweichung vom Sollwert betrug bei den nicht veraschten Kontrollen ebenfalls nur $\pm$ 0,5%.

Durch die Behandlung mit dem Veraschungsgemisch und den Reagenzien zur Zinkammonphosphatfällung (insgesamt rund 60 ccm) werden geringe Eisenmengen (rund 4% des Gesamtwertes) in die Analyse eingeschleppt. Sie werden als sogenannter Blindwert in Leerversuchen bestimmt und von dem Gesamtresultat abgezogen. Der Blindwert ist, sobald neue Reagenzien verwendet wurden, immer wieder von neuem bestimmt worden und lag stets zwischen 0,20 und 0,25 ccm n/150 $KMnO_4$.

Durch all diese Kontrollversuche ist der Nachweis erbracht, daß die gesamte Versuchsanordnung die Eisenbestimmung mit einer Genauigkeit von mindestens $\pm$ 0,5% ermöglicht.

Bei der Eisenbestimmung in meinen Hämoglobinpräparaten und im Blut war die Fehlerbreite wohl infolge unvermeidlicher Inhomogenitäten des Materials etwas größer, die Werte differierten aber meistens nur um 1%, in seltenen Fällen um 2% des gefundenen Wertes.

Vor der Analyse trocknete ich meine Präparate bis zur Gewichtskonstanz in einer Abderhaldenschen Trockenpistole bei 107° (siedendes Toluol) im Vakuum über Phosphorpentoxyd. Die bröckelig feuchten Kristallmassen, wie sie auf den Tontellern erhalten waren, wurden zunächst in der Trockenpistole eine Stunde lang vorgetrocknet, sodann im Achatmörser möglichst fein pulverisiert. Dann begann die eigentliche Trocknung, wiederum eine Stunde lang. Nach Abkühlen im Exsikkator wurde gewogen und nach einer weiteren Stunde Trocknung die

Gewichtskonstanz geprüft. Meist war sie nach der zweiten Trocknung schon erreicht, nötigenfalls wurde ein drittesmal getrocknet.

Bei der Wägung stellt sich nun heraus, daß bei einer Kristallmenge von zirka 5 g das Gewicht in der Minute um 1 mg zunimmt, das getrocknete Kristallpulver also hygroskopisch ist. Diese Beobachtung hatte schon Lehmann gemacht (27), der in 5 Versuchen feststellte, daß getrocknete Kristalle bei 15° an der Luft 11,195% Wasser anziehen. Die Wägung wurde daher immer 5 Minuten lang vorgenommen, damit die Voraussetzungen bei allen Präparaten möglichst gleich waren. Die Kristalleinwaage für die Fe-Bestimmung geschah deshalb auch immer in derselben Zeit, nämlich in 3 Minuten. In dieser Zeit war bei einer Gesamteinwaage von rund 0,5 g die Gewichtszunahme noch nicht merklich. Um Verluste bei der Wägung und beim Ueberführen der Substanz in die Veraschungskolben zu vermeiden, wurde das Kristallpulver gleich in die tarierten Veraschungskolben eingewogen.

Versuchsergebnisse.

Das Blut, das zu meinen Untersuchungen verwendet worden ist, stammt mit wenigen Ausnahmen von Tieren, die am Schlacht- und Viehhof in München zur Schlachtung kamen, und stammt demgemäß immer aus der Arteria Carotis. Bei der Blutentnahme ist besonders darauf geachtet worden, daß nur von solchen Tieren Blut aufgefangen wurde, deren Ernährungszustand gut war, und die keine Krankheitserscheinungen zeigten; ebenso ist neben der Tierart, Rasse, Geschlecht und Alter besonders vermerkt worden.

Die Resultate der Eisenbestimmung sind in den Tabellen II bis VI nach Tierarten getrennt aufgeführt. Jedes Präparat ist durch den Anfangsbuchstaben der Tierart, arabische Nummer des Individuums und römische Buchstaben der Eisenbestimmung gekennzeichnet. Es bedeutet z. B. R 3 f: Rinderhämoglobinkristalle von Versuchstier 3, 6. Parallelbestimmung des Eisengehaltes. Die Zahl der mit dem jeweiligen Präparat vorgenommenen Kristallisationen ist durch römische Ziffern besonders hervorgehoben.

Zunächst möchte ich diejenigen Versuche hervorheben, an denen ich mich überzeugte, wie oft ich die Präparate umkristallisieren mußte, um konstante Eisenwerte zu erhalten. Es ergaben sich bei den langsam kristallisierenden Hämoglobinen von Rind, Schaf und Ziege gar keine systematischen Aenderungen im Fe-Gehalt bei wiederholter Umkristallisation. Die Zahlen liegen sämtlich innerhalb 3% ihres Wertes beieinander. In den meisten Fällen habe ich aber trotzdem die Eisenbestimmung erst in der zweiten Kristallisation ausgeführt. Bei meinen

Pferdehämoglin-Präparaten habe ich allerdings die beiden niedrigsten Werte bei der ersten Kristallisation gefunden. Doch dürfte das, weil auch hier die Differenz zwischen größtem und kleinstem Wert noch nicht 3% ausmacht, und außerdem der Mittelwert mit dem bei den Wiederkäuern gefundenen praktisch zusammenfällt, reiner Zufall sein. Ich möchte deshalb bezweifeln, ob durch Umkristallisieren eine Aenderung in der Zusammensetzung der Kristalle erreichbar ist.

Zweitens geht aus den gefundenen Zahlen hervor, daß der Eisengehalt in den untersuchten Hämoglobinarten von der Tierart ganz unabhängig ist. Die Mittelwerte aller Bestimmungen, bei denen nur der offensichtlich fehlerhafte Wert S 1 a ausgeschlossen wurde, waren:

O_2Hb Kristalle von	Zahl der Bestimmungen	% Fe	Schwankungsbreite in % des Mittelwertes
Pferd . . .	5	0,3267	± 1,2
Rind . . .	12	0,3274	± 1,5
Schaf . . .	6	0,3263	± 1,2
Ziege . . .	5	0,3267	± 1,2

Sie stimmen also trotz der nicht sehr großen Zahl der Bestimmungen fast vollkommen überein. Das bedeutet zwar nicht, daß die Globinkomponente des Hämoglobins bei diesen Tierarten gleich zusammengesetzt ist, aber daß sie immer die gleiche Größe hat, wie es auch die Molekulargewichtsbestimmung mit der Ultrazentrifuge ergab (14).

Auch Unterschiede des Alters sind nicht feststellbar, wie sich z. B. aus der Gegenüberstellung ergibt:

Mittel	% Fe
Kuh 8 Jahre	0,328
Kalb 5 Wochen	0,327
Ziege 5 Jahre	0,329
Ziege 1 Jahr	0,324

Ebensowenig hat das Geschlecht Einfluß auf den Eisengehalt des Hämoglobins:

Mittel	% Fe
Bullen 5 u. 7 Jahre . .	0,326
Kühe 6 u. 8 Jahre . . .	0,328
Hammel 5 Jahre	0,325
Schaf 5 Jahre	0,327

Der Gesamtmittelwert aller von mir ausgeführten Eisenbestimmungen in den Hämoglobinkristallen der pflanzenfressenden Haussäuger beträgt 0,327% Fe. Diese Zahl ist um etwas über 2% niedriger als der seit Zinoffsky bzw. Butterfield geltende Wert 0,334. Ich bin der Meinung, daß diese Abweichungen nicht durch Unreinheit meiner Kristallpräparate, sondern lediglich in der Titerstellung meiner Permanganatlösung begründet ist. Hätte ich z. B. meine Permanganatlösung gegen die zuerst verwendeten, mit aller Sorgfalt hergestellten Fe-Standardlösungen aus Klavierdraht eingestellt, die gegenüber Natriumoxalat einen um 2% zu hohen Titer gab (vgl. Tab. II), so hätte ich in meinen Bestimmungen des Hämoglobineisens genau dieselben Werte wie Zinoffsky und Butterfield gefunden. Es schien mir aber die Einstellung gegen Fe-Standardlösung aus Fe_2O_3, die mit derjenigen gegen Natriumoxalat übereinstimmende Resultate gab, korrekter zu sein. Es ist ferner sehr wohl möglich, daß die Urtitersubstanzen, gegen die Zinoffsky bzw. Butterfield ihre Titrierflüssigkeiten einstellten, vor 50 bzw. 30 Jahren weniger rein erhältlich waren als heutzutage. Jede Verunreinigung in der Urtitersubstanz ergibt aber einen zu hohen Titer der Titrierflüssigkeit und damit zu hohe Eisenzahlen. Die Vermutung, daß Zinoffskys Wert 0,335 etwas zu hoch ist, wird auch dadurch gestützt, daß aus den, gleichzeitig mit ihm von G. v. Bunge, an denselben Präparaten gravimetrisch ausgeführten Fe-Bestimmungen ein Mittelwert von 0,329 resultierte, der dem meinigen schon sehr nahe kommt. Mit den neueren Bestimmungen kann ich mich teils aus den früher angeführten Gründen, besonders aber, weil dort Angaben über die Titerstellung sowie über die angewandte Trocknungstemperatur fehlen, nicht auseinandersetzen.

Anhang.

Die Konstanz des Eisengehaltes in Hämoglobinkristallen, wie ich sie in den vorstehenden Versuchen gefunden habe, ist aber nicht unbedingt. Stadie und Ross (25) haben vor zehn Jahren eine Methode angegeben, die die schnelle Gewinnung von Hämoglobinkristallen durch Elektrodialyse gestattet. Ihr Apparat (Abb. 5) besteht aus der eigentlichen Dialysierzelle, die aus Pergamentmembranen gebildet wird und zwischen Kohlenelektroden in einem relativ geräumigen Kasten untergebracht ist. Während der Elektrodialyse fließt in lebhaftem Strom Leitungswasser zwischen Elektroden und Dialysierzelle, das die dialysierenden Salze und die Elektrolysenprodukte entfernt. Sobald die Salzkonzentration im Innern der Zelle und auch der p_H unter einen gewissen Betrag gesunken ist, fallen in der Dialysierzelle, welche die Hb-Lösung enthält, Hämoglobinkristalle aus, sofern es sich um die relativ schwerlöslichen Hämo-

globine handelt. Die Darstellung von Rinder- und Ziegenhämoglobin gelang den Autoren auf diesem Wege nicht.

Ich beabsichtigte, diese Methode für meine Untersuchungen ebenfalls heranzuziehen. Es zeigte sich bereits bei den ersten Versuchen, die ich mit Pferdehämoglobin-Lösung ausführte, daß tatsächlich sehr schnell (schon nach 20 Minuten) schöne Kristalle gebildet werden (Photo Nr. 10, 11, 12), die sich innerhalb 3 Stunden so vermehren, daß die ganze Zelle von dichtem Kristallbrei angefüllt ist. Im ersten Versuch, den ich, wie sich später herausstellte, wohl zu lang ausdehnte (6 Stunden), und bei dem die Wasserspülung nicht intensiv genug, außerdem der Elektrodenabstand zu gering war, zeigte sich eine deutliche Methämoglobinbildung, die ich bei spektroskopischer Betrachtung einer Lösung der Kristalle auf etwa 10% des gesamten Hämoglobins schätze. In dem zweiten Versuch, der unter günstigeren Bedingungen und nur 3 Stunden lang durchgeführt wurde, war spektroskopisch kein Methämoglobin nachweisbar.

In den erhaltenen Kristallen habe ich Eisenbestimmungen ausgeführt, die folgende auffallende Resultate ergaben:

Präp. Nr.	Rasse	Geschlecht	Alter	% Fe	Mittel	Kristallisations Nr.	Darstellungsmethode
P 1 c	Oberländer	Stute	15 J.	0,312	0,314	I	Elektrodialyse
P 1 d		„	„	0,315		I	„
P 2 a	mittelschw. Wagenpferd	Wallach	8 J.	0,313	0,316	I	„
P 2 b	„	„	8 J.	0,318		I	„
P 1 a	Oberländer	Stute	15 J.	0,330	0,329	II	Kältemischung, Alkoholzusatz
P 1 b				0,328		II	

Der Eisengehalt der durch Elektrodialyse gewonnenen Kristalle war in beiden Versuchen erheblich (rund 4—5%) geringer als in den aus demselben Blut gleichzeitig nach dem Kälteverfahren gewonnenen Präparaten. Ob dieser Mindergehalt auf den Einfluß des elektrischen Feldes und eine elektrolytische Abtrennung von Eisen aus dem Blutfarbstoff oder auf eine Trennung von Farbkomponente und Globin zurückzuführen ist, müßten neue Versuche entscheiden. Einstweilen verzichtete ich auf die weitere Verwendung der Methode.

C. Der Fe-Gehalt im Blut und Blutplasma und der Hämoglobingehalt des Blutes

1. Gesamteisengehalt und Hämoglobingehalt des Blutes.

Außer den vorstehend beschriebenen Eisenbestimmungen in Hb-Präparaten führte ich auch einige Bestimmungen des Eisengehaltes am Gesamtblut und in einigen Fällen am Blutplasma durch und ermittelte hieraus den absoluten Hb-Gehalt des untersuchten Blutes, der für die Kontrolle der Sauerstoffkapazität (Dissertation Schweiger) von Interesse ist. Die Eisenbestimmung im Blut wurde mit der beschriebenen Methode durchgeführt. Zur Abmessung des Blutes (5 ccm) habe ich Spülpipetten (Abb. 6) genommen, deren Volumen ich durch Auswägen mit Quecksilber genau bestimmt hatte. Das Blut, dem Kalimoxalat p. a. in Substanz zur Verhütung der Gerinnung zugesetzt war, wurde mit diesen Pipetten direkt in die Veraschungskolben einpipettiert und mit Hilfe ihres Spülaufsatzes quantitativ herausgespült. Sodann dampfte ich die Blutlösung auf dem Wasserbade auf Sirupdicke ein, um später bei der Veraschung starkes Schäumen der Flüssigkeit, das ein quantitatives Arbeiten unmöglich macht, zu vermeiden. Der weitere Gang der Analyse war wie früher (Tab. VII).

Die Hämoglobingehalte berechnete ich unter Verwendung des im vorigen Kapitel näher erläuterten Gesamtmittelwertes meiner Bestimmungen des Hb-Eisens (0,327%) ohne Unterscheidung der Tierart. 1 mg Fe entspricht hiernach $\frac{100}{327}$g Hb, der Hämoglobingehalt in 100 ccm Blut (= g% Hb) ist folglich:

$$g\%\ Hb = mg\ Fe\ in\ v\ ccm\ Blut \times \frac{100}{v} \cdot \frac{100}{327}.$$

Da ich meinen Eisengehalt des Hämoglobins (0,327%) einsetze, der rund 2% niedriger ist als der früher meist benutzte Wert (0,334%), sind meine Hämoglobinwerte um ziemlich genau 2% höher, als sie es bei Verwendung der Zahl 0,334 wären.

Hinsichtlich des Betrages der Hämoglobinwerte ist interessant, daß recht große Schwankungen vorkommen. Daß diese nicht auf methodische Fehler zurückgeführt werden können, dürfte aus der befriedigenden Uebereinstimmung der zahlreichen untersuchten Parallelproben hervorgehen. Bemerkenswert ist der sehr niedrige Wert 7,8 g% Hb im Blut einer Ziege.

2. Eisengehalt des Blutplasmas.

Die Berechnung des Hämoglobingehaltes aus dem Gesamteisengehalt des Blutes setzt neben der Kenntnis des Eisengehaltes des Hämoglobins voraus, daß alles Eisen im Blute als

Hämoglobineisen enthalten ist. Bestimmt man den Eisengehalt im blutkörperchenfreien Plasma, so bekommt man ein Urteil darüber, in welchen Mengen anorganisches oder auch organisch gebundenes Nicht-Hämoglobineisen im Blute etwa vorhanden ist. Ich habe mich durch einige solcher Bestimmungen davon überzeugt, daß der Eisengehalt des Plasmas tatsächlich sehr gering ist. Der neuerdings in der Literatur angegebene Betrag von ungefähr 1% des Gesamteisens stimmt auch mit meinen Beobachtungen überein.

Diese Eisenbestimmungen im Plasma, die hauptsächlich über die Größenordnung der vorkommenden Eisenmengen orientieren sollten, habe ich kolorimetrisch analog der bekannten Willstätterschen Rhodanid-Mikromethode für Gesamtbluteisen ausgeführt. Wegen der sehr geringen, hierbei zu bestimmenden Eisenmengen mußte ich trotz der großen Empfindlichkeit des Verfahrens jeweils 5 ccm Plasma für jede Bestimmung anwenden. Aus dem gleichen Grunde war weder die feuchte Veraschung (Blindwert!) möglich, noch die trockene Veraschung unter Kaliumbisulfatzusatz (eisenhaltig!). Ich veraschte deshalb, ähnlich wie Fowweather (28), nachdem die Probe im Platintiegel eingedampft war, unter Zusatz einiger Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und 3%igem Wasserstoffsuperoxyd auf offener Flamme. Mein weiteres Vorgehen entsprach genau der Vorschrift von Autenrieth und Funk (29). Für die Kolorimetrie stand mir ein kleines Kolorimeter nach Autenrieth zur Verfügung. Die Vergleichslösung im Keil stellte ich für jede Versuchsreihe aus einer 12 γ Fe pro ccm enthaltenden Stammlösung — hergestellt aus meiner früheren Fe-Standardlösung — jedesmal frisch dar. Mit der gleichen Lösung bzw. ihren Verdünnungen ermittelte ich auch die Eichkurve (Abb. 7).

Ich führte solche Bestimmungen an Pferde-, Rinder- und Schafblutplasma aus, das aus dem Oxalatblut durch sofortiges Zentrifugieren abgetrennt war. Durch die Benzidinprobe überzeugte ich mich davon, ob im Plasma Blutfarbstoff als solcher vorhanden war. Ich erhielt fast stets eine schwach Gelbgrünfärbung, Blaufärbung nur in einem Falle, in dem ich die Probe erst einen Tag später untersuchte. Der Eisengehalt war aber in diesem Falle ebenfalls sofort nach dem Zentrifugieren ermittelt worden.

Nach den Ergebnissen meiner Bestimmungen lag der Eisengehalt der untersuchten Plasmaproben im Mittel bei 0,71 mg% Fe (Tab. VIII). Berücksichtigt man, daß im Blute nur zwei Drittel des Gesamtvolumens auf Plasma entfallen, so wird dieser Wert für Blut 0,46 mg% Fe ausmachen. Der Gesamteisengehalt des Blutes ist ungefähr gerade hundertmal größer, so daß also die Berechnung des Hämoglingehaltes aus dem Gesamteisengehalt des Blutes einen um rund 1% zu hohen Wert liefern

würde. Wahrscheinlich ist aber doch diese Grenze zu hoch gegriffen, denn wie der Ausfall der Benzidinreaktion zeigte, enthielt das Plasma vielleicht doch Spuren von Hämoglobin. Deswegen, und weil ich gleichzeitige Eisenbestimmungen im Gesamtblut und Plasma nicht ausgeführt habe, möchte ich von einer Korrektur an meinen gefundenen Hämoglobinwerten absehen.

Zusammenfassung

1. Die Oxyhämoglobine der pflanzenfressenden Haussäuger (Pferd, Rind, Schaf und Ziege) werden unter vergleichbaren Bedingungen kristallisiert dargestellt, davon Ziegenhämoglobinkristalle erstmalig.

2. Das Hämoglobin der Ziege kristallisiert dimorph in rhombischen Nadeln und hexagonalen Tafeln.

3. Der Eisengehalt aller von mir nach dem üblichen Verfahren (Alkoholzusatz in der Kälte) dargestellten Hämoglobinkristalle war für die untersuchten Tierarten konstant = 0,327 ± 0,005% Fe in der Trockensubstanz; dieser Wert ist 2% niedriger als der von den meisten früheren Untersuchern gefundene Fe-Gehalt. Er wird methodisch begründet. Eisenbestimmungen von Schaf- und Ziegenhämoglobin lagen, soweit ich feststellen konnte, bisher nicht vor.

4. Oxyhämoglobinkristalle aus Pferdeblut, die durch Elektrodialyse gewonnen worden waren, enthielten nur 0,315 ± 0,003% Fe.

5. Rasse, Geschlecht und Alter bedingen keinen erkennbaren Unterschied im Eisengehalt des Hämoglobins.

6. Aus Bestimmungen des Gesamteisens im Blut von gesunden Schlachtpferden, -rindern, -schafen und -ziegen berechnete ich den Hämoglobingehalt dieser Blutproben. Er lag zwischen 7,8 (Ziege) und 16,7 (Ochse) g% Hb.

7. Im Blutplasma von Pferd, Rind und Schaf fand ich in fünf Proben 0,15–1,05 mg% Fe.

Am Schlusse meiner Ausführungen ist es mir ein Bedürfnis, dem hochverehrten Leiter des Tierphysiologischen Institutes, Herrn Prof. Dr. J. Paechtner, für die Ueberlassung des Themas sowie für seine Anregungen und seine Leitung der Arbeit allerbesten Dank zu sagen. Ebenso bin ich gern verpflichtet, Herrn Dr. Gürsching für die Unterstützung bei der Ausarbeitung der Methodik und der Durchführung der Untersuchungen bestens zu danken.

Literatur-Angabe

1. Hünefeld: Der Chemismus in der thierischen Organisation, Leipzig, Brockhaus (1840), 160.
2. Reichert: Beobachtungen über eine eiweißartige Substanz in Krystallform, Arch. f. Anat. Phys. u. wissensch. Med. (1849), 197.
3. Köllicker: Zeitschr. f. wiss. Zoologie (1894), I, 266.
4. Budge: Sitzungsbericht d. Niederrh. Gesellschaft f. Natur- u. Heilkunde (1850).
5. Funke: Neue Beobachtungen über die Kristalle des Milzvenen- und Fischblutes, Zeitsch. f. rat. Med. N. F. **2**; 290 (1852).
6. Preyer: Die Blutkristalle, Jena (1871).
7. Fischer H.: Liebigs Ann. **468**; 98 (1929).
8. Reichert E. T. und Brown A. P.: The cristallograph. of Haemoglobins (1909), Washington, Carnegie-publication Washington.

8a. Frieboes W.: Pflügers Arch. f. ges. Phys. **98**, 434 (1903).

9. Uhlik M.: Über den Heteromorphismus des Pferdeblut-Hämogl., Pflüg. Arch. **104**; 64 (1904).
10. Möllenhoff E.: Untersuchungen über Hämoglobinkristalle von Säugetieren, Zeitschr. f. Biol. **79**; 93 (1923).
11. Heidelberger und Landsteiner: Journal of exper. Medizin **38**; 541 (1923).
12. v. Krüger: Zeitschrift für vergleichende Phys. **2**; 254 (1925).
13. Valer: Über den versch. S.-Gehalt der Hämoglobine versch. Ursprungs, Biochem. Zeitschr. **190**; 444 (1927).
14. Schenck E. G.: Untersuchungen über das Globin bei Tieren, gesunden und kranken Menschen, Arch. f. exp. Path. und Pharm. **150** (1930).
15. Barcroft: Die Atmungsfunktion des Blutes II. Hämoglobin 41 (1929).
16. Haurowitz: Hämoglobine des Menschen, Zeitschr. f. Phys. Chemie **186**; 141 u. **232**; 125 (1935).
17. Söldner: Veterinär-Med. Diss., München 1936.
18. Zinoffsky: Über die Größe des Hb-Moleküls, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. **10**; 16 (1885).
19. Butterfield: Über die Lichtextinktion, das Gasbindungsvermögen u. den Fe-Gehalt des menschl. Blutfarbstoffes in norm. u. krankhaften Zuständen, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. **62**, 173 (1909).
20. Bürker K.: Reindarstellung des Hb., Handb. d. phys. Methodik von Tigerstedt II. 92 (1911).
21. László: Biochem. Zeitschr. **237**; 483.
22. Sziklay: Biochem. Zeitschr. **223**; 373.
23. Klein: Biochem. Zeitschr. **237**; 492.
24. Treadewell: Analytische Chemie II, S. 524.
25. Stadie und Ross: I. Untersuchungen über die sauerstoff-, säure- und basenbildenden Eigenschaften des Blutes. II. Eine rasche Methode zur Darstellung kristl. Hb. durch Elektr.-Dialyse der roten Blutkörperchen, Journal of Biol. Chem. **68**; 229 (1926).
26. Brandt L.: Zeitschr. f. analyt. Chem. **48**; 703 (1909).
27. Lehmann: Über den kristallisierbaren Stoff des Blutes. Berichte über d. Verh. d. sächs. Ges. d. Wissenschaften, Leipzig (1852).

28. Fowweather: Die Bestimmung des Fe im Blutplasma, Biochemic. J. **28**; 1160 (1934).
29. Autenrieth u. Funk: Münchener Med. Wochenschr. (1912) S. 765.
30. Adzodi: Verh. 14. Int. Kongr. Phys. 16 (1932).
31. Otto: Zeitschr. f. phys. Chemie **7**; 57 (1882/83).
32. Hüfner: Gratulationsschrift f. C. Ludwig, Beiträge zur Phys. 94, Leipzig (1887).
33. Timar: Über den S-Gehalt des Hb im Blute rassenreiner Hunde und einiger seltener untersuchter Tierarten, Bioch. Zeitschr. **202**; 365.
34. Schmidt: A. Böttcher, Über Blutkörperchen. Dorpat (1862, 23.
35. Hoppe-Seyler: Arch. f. path. Anat. u. Phys. **29**; 597.
36. Jaquet: Zeitschr. f. phys. Chem. **12**; 285 (1888).
37. Jaquet: Zeitschr. f. phys. Chem. **14**; 289 (1890).
38. Abderhalden: Handb. der biol. Arbeitsmethoden.
39. Hoppe-Seyler u. Kossel: Zeitschr. f. phys. Chem. **2**; 149 (1878).
40. Otto: Arch. f. ges. Phys. **31**; 240.
41. Bücheler: Inaug.-Diss. Tübingen (1883).
42. Jutt: Diss. Jurjew, Dorpat (1894).
43. Lawrow: Quantitat. Best. d. Bestandt. d. Oxyhb. d. Pferdes, Zeitschr. f. phys. Chem. **26**: 343.
44. Abderhalden: Zeitschr. f. phys. Chem. **37**; 484.
45. Willstätter und Pollinger: Zeitschr. f. phys. Chem. **130**; 281.
46. Letsche: Zeitschr. f. phys. Chem. **76**; 243.
47. Haurowitz: Zeitschr. f. phys. Chem. **136**; 147.
48. Hüfner-Jaquet: Arch. f. Anat. u. Phys. Abt. Phys. (1894) S. 130.
49. Hoppe-Seyler: Med. chem. Unters. H. 3; 170.
50. Bardachzi: Zeitschr. f. phys. Chem. **49**; 465.
51. Paechtner J.: Blut und Lymphe, Handb. d. vergl. Physiologie der Haussäugetiere v. Ellenberger u. Scheunert, 40 (1927).
52. Oppenheimer: 1. Handbuch der Biochemie d. Menschen u. d. Tiere, 1, 424. 2. Ergänzungswerk, I. 369.
53. Horsters: Zur Frage der quantitat. Fe-Bestimmung in Organen und Körperflüssigkeiten, Bioch. Zeitschr. **232**; 469 (1931).
54. Hoppe-Seyler-Thierfelder: Handb. d. physiol.- u. pathol.-chem. Analyse.

Tabelle I.

Nr.	Zahl der Bestimmungen	% Fe			Schwankungsbreite in % des Mittels	Methode der Fe-Bestimmung	Autor	Jahr
		kleinster	größter	Mittel-Wert				
				Mensch:				
1	1	—	—	0,331	—	Perm.-Titration	Butterfield (19)	1909
2	2	0,36	0,37	0,365	3	Gew. Analyse	Haurowitz (16)	1929
3	—	—	—	0,34	—	—	Aszodi (30)	1932
4 [1])	—	—	—	0,34	—	Kennedy	Haurowitz (16)	1935
				Schwein:				
1	2	0,34	0,45	0,44	2	$Mn\,Cl_2$-Titration	Otto (31)	1882
2	2	—	—	0,449	—	„	Hüfner-Otto (31)	1882
3	3	0,392	0,412	0,398	5	Gew. Analyse	Hüfner (32)	1887
4	2	0,330	0,332	0,331	1	Willstätter	Timar (33)	1928
				Hund:				
1	—	—	—	0,43	—	Glührückstand	Schmidt (34)	1862
2	—	—	—	0,42	—	„	Hoppe-Seyler (35)	1864
3	—	—	—	0,42	—	„	Preyer (6)	1866
4	3	—	—	0,426	—	$Mn\,Cl_2$-Titration	Otto (31)	1882
5	5	0,3314	0,3331	0,3327	1	Titr. - Gew. Anal.	Jaquet (36)	1888
6	3	0,3343	0,337	0,336	1	$Mn\,Cl_2$-Titration	Jaquet (37)	1890
7	4	0,327	0,337	0,332	3	Willstätter	Valer (13)	1927
8 [2])	12	0,325	0,337	0,330	3,5	„	Timar (33)	1928
9 [3])	3	0,342	0,386	0,338	14	„	„	1928
10 [4])	2	0,331	0,335	0,333	1	„	„	1928

[1]) Fetus.

[2]) Hunde ohne Auswahl.

[3]) Nach 10tägiger Hungerperiode.

[4]) Mit nur 500 g Fleisch pro Tag

Tabelle I (1. Fortsetzung).

Nr.	Zahl der Bestimmungen	% Fe kleinster	% Fe größter	% Fe Mittel-Wert	Schwankungsbreite in % des Mittels	Methode der Fe-Bestimmung	Autor	Jahr
11*)	10	0,326	0,340	0,3347	4	Willstätter	Timar (33)	1928
12	4	0,322	0,350	0,329	8	„	László (21)	1931
13	7	0,335	0,353	0,341	5	Titanverfahren	„	1931
				Katze:				
1	—	—	—	0,35	—	—	Abderhalden (38)	1923
2	2	0,327	0,334	0,330	2	Willstätter	Valer (13)	1927
3	3	0,333	0,339	0,336	1,8	„	Timar (33)	1928
				Pferd:				
1	—	—	—	0,47	—	—	Kossel (39)	1878
2	—	—	—	0,45	—	$MnCl_2$-Titration	Otto (40)	1883
3	3	0,46	0,47	0,466	2	$KMnO_4$-Titration	Bücheler (41)	1883
4	10	0,327	0,338	0,335	3,3	$MnCl_2$-Titration	Zinoffsky (18)	1885
5	3	0,325	0,334	0,329	3	Gew. Analyse	Bunge (18)	1885
6	16	0,3932	0,3936	0,3933	0,1	Gew. u. Maßanal.	Jutt (42)	1894
7	3	0,45	0,499	0,47	10	Gew. Analyse	Lawrow (43)	1898
8	10	—	—	0,38	—	—	Abderhalden (44)	1903
9	7	0,361	0,367	0,364	1,8	Rhodanid-Methode	Willstätter und Pollinger (45)	1923
10	18	0,325	0,365	0,34	13	$KMnO_4$-Titration	Letsche (46)	1911
11	7	0,328	0,378	0,3495	15	Gew. Analyse	Haurowitz (47)	1924
12	4	0,322	0,337	0,345	5	Willstätter	Valer (13)	1927
13	7	0,329	0,338	0,335	3	„	Timar (33)	1928

*) Rassenrein.

Tabelle I (2. Fortsetzung).

Nr.	Zahl der Bestimmungen	% Fe			Schwankungsbreite in % des Mittels	Methode der Fe-Bestimmung	Autor	Jahr
		kleinster Wert	größter Wert	Mittel- Wert				
14	16	0,312	0,344	0,332	10	Titanverfahren	Sziklay (22)	1930
15	6	0,322	0,346	0,335	7	„	László (21)	1931
16	12	0,340	0,357	0,348	5	Willstätter	Klein (23)	1931
17	12	0,324	0,376	0,353	17	Wong	„	1931
				Rind:				
1	2	0,398	0,402	0,400	1	Gew. Analyse	Hüfner (32)	1887
2	5	0,3316	0,342	0,336	3	$MnCl_2$-Titration	Hüfner-Jaquet (48)	1894
3	3	0,332	0,336	0,334	1,2	$KMnO_4$-Titration	Butterfield (19)	1909
4	3	0,328	0 337	0,333	3	Willstätter	Valer (13)	1927
5	2	0,335	0,335	0,335	0	„	Timar (33)	1928

Zu Tabelle I. Andere Spezies.

Nr.	Spezies	% Fe	Autor	Jahr
1	Meerschweinchen	0,48	Lehmann (27)	1852
2	„	0,48	Hoppe- Seyler (35)	1868
3	Eichhörnchen	0,49	„	1868
4	Gans	0,43	„	1868
5	Huhn	0,34	Jaquet (37)	1890
6	Seeschildkröte	0,41	Bardachzi (50)	1909

Tabelle II.

Tabelle der Titerstellungen gegen Fe-Standardlösungen.

Versuchs-Nr. und Datum	Fe-Standardlösung hergestellt aus	Einpipettiert ccm	Einpipettiert mg Fe	Verbrauch an n/150 $KMnO_4$ (gegen n/150 $Na_2C_2O_4$ eingestellt) ccm	Faktor der n/150 $KMnO_4$ gegen n/150 $Na_2C_2O_4$	$KMnO_4$-Verbrauch korrigiert ccm [1]	hieraus gefundene mg Fe	Differenz gegen Sollwert mg Fe	Differenz gegen Sollwert %	Bemerkungen
1 29. Juli 35	$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	2,000	2,000	3,72; 3,69; 3,694; 3,72 [2] Mittel: 3,701	0,9861 [2]	3,649 [2]	2,038	+ 0,038	+ 1,9	nicht verascht
2 28. Aug. 35	„	2,000	2,000	4,88; 4,887; 4,88 Mittel: 4,882	1,1201	5,4559	2,036	+ 0,036	+ 1,8	nicht verascht
3 4. Sept. 35	Klavierdraht	2,000	2,000	4,854; 4,847; 4,833 Mittel: 4,844	1,1118	5,385	2,005	+ 0,005	+ 0,25	nicht verascht
4 4. Sept. 35	„	2,000	2,000	5,00; 4,96 Mittel: 4,98	1,1118	5,3145	1,978	— 0,022	— 1,1	verascht
5 5. Sept. 35	„	2,000	2,000	4,94; 4,96; 4,947 Mittel: 4,949	1,1118	5,280	1,966	— 0,034	— 1,7	verascht
6 12. Sept. 35	Fe_2O_3	2,000	2,000	4,860; 4,865; 4,877 Mittel: 4,867	1,1118	5,4115	2,01	+ 0,01	+ 0,5	nicht verascht
7 12. Sept. 35	„	2,000	2,000	5,060; 5,050; 5,057 Mittel: 5,0583	1,1118	5,4015	2,011	+ 0,011	+ 0,5	verascht
8 6. Febr. 36	„	2,000	2,000	4,930; 4,960; 4,955; 4,95 Mittel: 4,947	1,0873	5,379	2,0025	+ 0,0025	+ 0,001	nicht verascht
9 13. Mai 36	„	2,000	2,000	5,120; 5,100; 5,100 Mittel: 5,107	1,0496	5,360	1,996	— 0,004	— 0,2	nicht verascht

[1]) Bei den veraschten Proben ist vor Multiplikation mit dem Faktor der Blindwert (0,200 ccm) abgezogen.
[2]) n/100 $KMnO_4$.

Tabelle III.

Fe-Gehalt in % der Pferdehämoglobinkristalle.

Präp. Nr.	Rasse	Geschlecht	Alter	Fe-Gehalt	Mittel	Kristallisation Nr.
P 1a	Oberländer	Stute	15 J.	0,330	0,329	II
P 1b	„	„	„	0,328		II
P 3a	mittelschw. Wagenpferd	„	10 J.	0,322	0,323	I
P 3b	„	„	„	0,324		I
P 3c	„	„	„	0,329	0,329	II
			Gesamtmittel		0,327	

Tabelle IV.

Fe-Gehalt in % der Rinderhämoglobinkristalle.

Präp. Nr.	Rasse	Geschlecht	Alter	Fe-Gehalt	Mittel	Kristallisation Nr.
R 1a	Höhenfleckvieh	Kuh	6 Jahre	0,326	0,326	II
R 2a	„	Bulle	5 Jahre	0,322	0,324	I
R 2b	„	„	„	0,326		I
R 3a	„	Kuh	8 Jahre	0,328	0,3285	I
R 3b	„	„	„	0,329		I
R 3c	„	„	„	0,332	0,328	II
R 3d	„	„	„	0,325		II
R 3e	„	„	„	0,330	0,328	III
R 3f	„	„	„	0,3275		III
R 4a	„	Bulle	7 Jahre	0,326	0,328	II
R 4b	„	„	„	0,330		II
R 5a	„	Kalb	5 Wochen	0,327	0,327	II
			Gesamtmittel		0,327	

Tabelle V.

Fe-Gehalt in % der Schafhämoglobinkristalle.

Präp. Nr.	Rasse	Geschlecht	Alter	Fe-Gehalt	Mittel	Kristallisation Nr.
S 1a	Deutsches veredeltes Landschaf	Hammel	5 J. ca.	0,262*)		II
S 1b	"	"	"	0,325		II
S 3a	"	Schaf	"	0,330	0,328	II
S 3b	"	"	"	0,326		II
S 4a	"	"	"	0,326	0,324	II
S 4b	"	"	"	0,322		II
S 5a	"	"	"	0,329	0,329	II
			Gesamtmittel		0,327	

*) Offensichtlich zu niedrig; von der Mittelbildung ausgeschlossen.

Tabelle VI.

Fe-Gehalt in % der Ziegenhämoglobinkristalle.

Präp. Nr.	Rasse	Geschlecht	Alter	Fe-Gehalt	Mittel	Kristallisation Nr.
Z 2a	braune Franken-ziege	Ziege	5 Jahre	0,330	0,328	I
Z 2b	"	"	"	0,326		I
Z 2a	"	"	"	0,330	0,330	II
Z 1a	weiße Sahnen-ziege	„	1 Jahr	0,322	0,3235	II
Z 1b	"	"	"	0,325		II
			Gesamtmittel		0,327	

Tabelle VII.

Hämoglobingehalt des Blutes.

Nr	Rasse u. Schlag	Geschlecht	Alter	g % Hb a	b	Mittel
			Pferd:			
1	Mittelschweres Wagenpferd	Stute	über 15 J.	13,9	14.1	14.0
				13,9	14.1	14.0
2	„	Wallach	„	13.1	12.8	13.0
				13,0	12.7	12.8
3	„	—	„	13.1	12.8	13.0
				13.0	12.7	12.8
			Rind:			
1	Höhenfleckvieh	Bulle	—	14,7	14.7	14,7
2	„	„	6 J.	16.2	16.2	16.2
3	„	Ochse	—	16,2	16.5	16.4
				16,6	16.8	16,7
4	„	Kuh	—	13,1	12.9	13.0
				12.9	12.7	12.8
5	„	„	—	15,8	15.8	15,8
				15,8	–	15,8
6	Schwarzbunt Nied.-V. hochtrg.	„	6 J.	11,5	11.4	11,5
7	Höhenfleckvieh	„	9 J.	14,5	—	14.5
8	„	„	7 J.	9,3	9,3	9,3
			Schaf:			
1	Deutsches veredeltes Landschaf	Hammel	zirka 5 J.	12,5	12.5	12.5
2	„	Schaf	„	13.1	13.2	13.2
			Ziege:			
1	Braune Frankenziege	Ziege	4—5 J.	7,9	7.7	7.8
2	Sahnenziege	„	„	13,8	13.7	13.8

Tabelle VIII.

Eisenbestimmungen im Blutplasma.

Nr.	Tierart	Geschlecht	mg % Fe a	b	Mittel	Benzidinprobe
1	Pferd	Wallach	0,15	—	0,15	gelb-grün
2	„	„	1,20	1,23	1,21	„
3	Rind	Kuh	1,1	1,0	1,05	„
4	„	„	0,95	—	0,95	„
5	Schaf	Schaf	0,2	0,2	0,2	blau nach 1 Tag

Gesamtmittel = 0,71 mg %

Lebenslauf

Geboren am 24. April 1909 zu Ludwigshafen a. Rh., besuchte ich da zuerst die Volksschule, dann das Realgymnasium. Ab Untertertia war ich Schüler der Lenderschen Lehranstalt in Sasbach b. Achern, der ich bis zur Untersekunda angehörte. 1930 machte ich die Aufnahmeprüfung in die Oberprima der Tulla-Oberrealschule in Mannheim, in der ich 1931 das Reifezeugnis erhielt.

Vom Sommersemester 1931 bis Sommersemester 1934 studierte ich an der tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Universität in Gießen, wo ich auch die tierärztliche Vorprüfung im Wintersemester 1932/33 bestand. Vom Wintersemester 1934/35 an setzte ich meine Studien an der Ludwig-Maximilians-Universität in München fort, an der ich im Wintersemester 1935/36 die tierärztliche Prüfung ablegte.

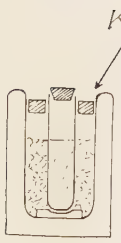
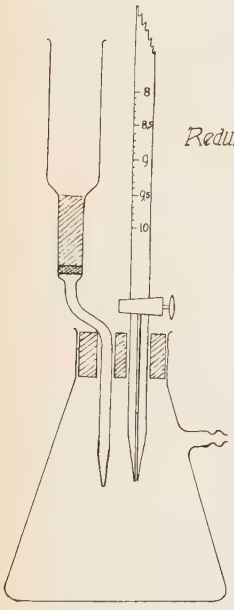


Abb. 1

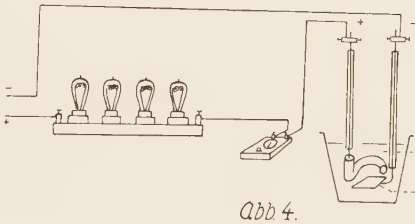
Cadmium-Reduktor

Abb. 2



Reduktor-Bürette-Kombination.

Abb. 3



Cadmium-Elektrolyse

Abb 4.

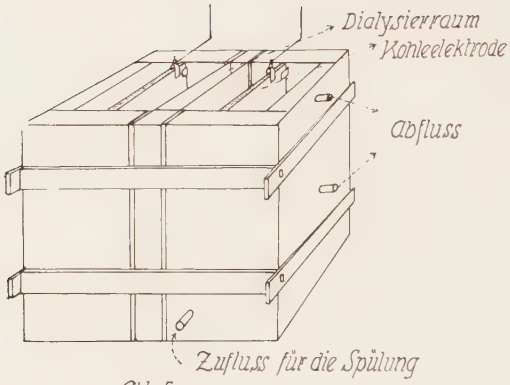


Abb. 5

Abb. 6

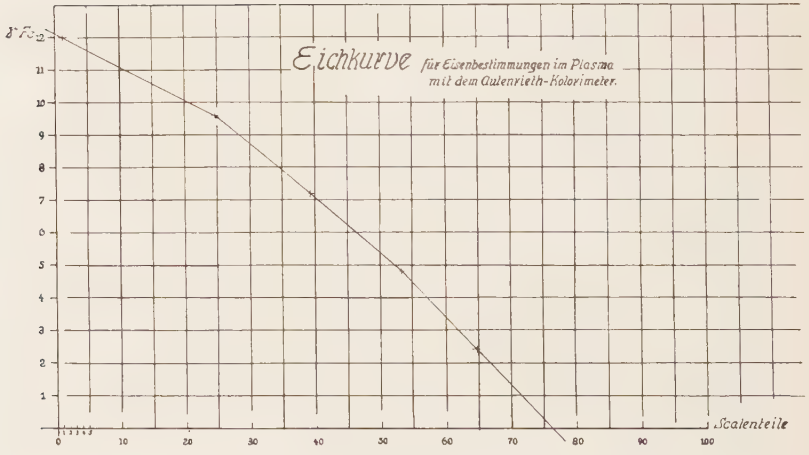


Abb. 7

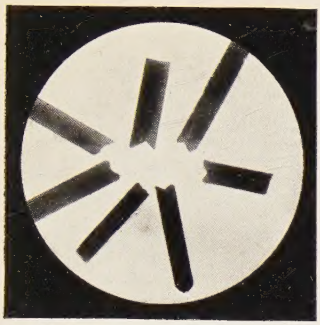


Photo Nr. 1
Trockenpräparat von
rhombischen Ziegenhämoglobinkristallen
(lineare Vergr. 13,5 ×)

Photo Nr. 2
Rhombische Ziegenhämoglobinkristalle in
der Mutterlauge (lineare Vergr. 13,5×)

Objektiv Zeiß Nr. 1, Okular Leitz Periplan 8, Panphot Leitz, ohne Spiegelaufsatz

Photo Nr. 3
Präp. 1 stärker vergrößert
(lineare Vergr. 26,5 ×)

Photo Nr. 4
Präp. 2 stärker vergrößert
(lineare Vergr. 26,5×)

Objektiv Zeiß Nr. 1, Okular Leitz Periplan 8, Panphot Leitz mit Spiegelaufsatz

Photo Nr. 5
Trockenpräparat von
rhombischen Ziegenhämoglobinkristallen
unter dem Polarisationsmikroskop

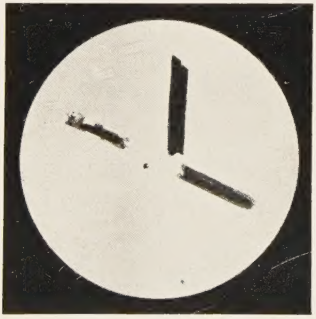


Photo Nr. 6
Präp. 5 bei Drehung um 45°
(lineare Vergr. 13,5×)

Objektiv Leitz Nr. 1, Okular Leitz Periplan 8, Polarisationsmikroskop Leitz Panphot

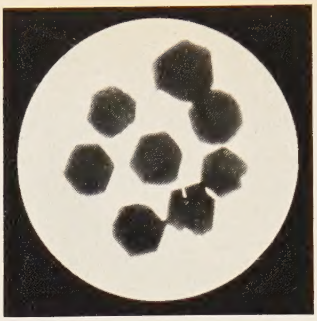


Photo Nr. 7
Trockenpräparat von hexagonalen Ziegenhämoglobinkristallen (lineare Vergr. 26,5×)

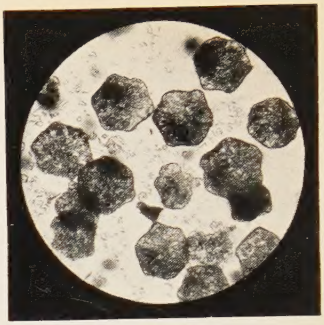


Photo Nr. 8
8. Hexagonale Ziegenhämoglobinkristalle in der Mutterlauge (lineare Vergr. 26,5×)

Objektiv Zeiß Nr. 1, Okular Leitz Periplan 8, Panphot Leitz mit Spiegelaufsatz

Photo Nr. 9
Nadeln von Schafhämoglobinkristallen in der Mutterlauge (lineare Vergr. 65×)

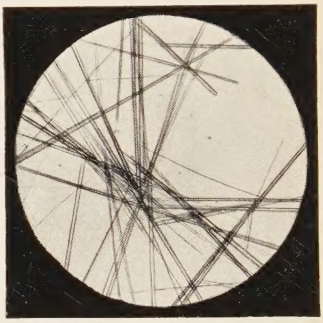


Photo Nr. 10
Nadeln von Pferdehämoglobinkristallen, dargestellt durch Elektrodialyse, 20 Min. nach Beginn der Elektrodialyse entnommen (lineare Vergr. 65×)

Objektiv Leitz Nr. 3, Okular Leitz Periplan 8, Panphot Leitz mit Spiegelaufsatz

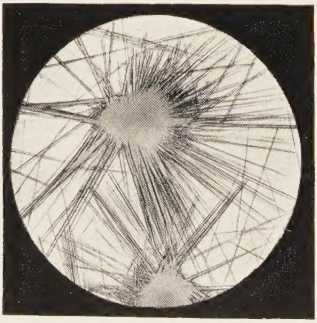


Photo Nr. 11
Pferdehämoglobinkristalle, dargestellt durch Elektrodialyse, drei Stunden nach Beginn der Elektrodialyse entnommen (lineare Vergr. 65×)

Photo Nr. 12
Pferdehämoglobinkristalle, dargestellt durch Elektrodialyse, erst am folgenden Tag und nachdem die Mutterlauge abgegossen war entnommen (lineare Vergr. 65×)

Objektiv Leitz Nr. 3, Okular Leitz Periplan 8, Panphot Leitz mit Spiegelaufsatz